



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
CAMPUS BAIXADA SANTISTA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DO MAR

LETÍCIA MALVESTIO PARREIRA

ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DE
***ISURUS OXYRINCHUS* NOS OCEANOS ATLÂNTICO E ÍNDICO**

SANTOS

2021

LETÍCIA MALVESTIO PARREIRA

**ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DE
ISURUS OXYRINCHUS NOS OCEANOS ATLÂNTICO E ÍNDICO**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à
Universidade Federal de São Paulo, como parte
das exigências para a obtenção do título de
Bacharel Interdisciplinar em Ciência e
Tecnologia do Mar.

Orientador: Dr. Rodrigo Rodrigues Domingues

Supervisor: Prof. Dr. Fernando F. Mendonça

SANTOS

2021

Ficha catalográfica elaborada por sistema automatizado
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P259e Malvestio Parreira , Letícia .
ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL E DIVERSIDADE
GENÉTICA DE ISURUS OXYRINCHUS NOS OCEANOS ATLÂNTICO E
ÍNDICO. / Letícia Malvestio Parreira ; Orientador
Rodrigo Domingues ; Coorientador . -- Santos, 2021.
23 p. ; 30cm

TCC (Graduação - Bacharelado Interdisciplinar em
Ciências e Tecnologia do Mar) -- Instituto do Mar,
Universidade Federal de São Paulo, 2021.

1. Tubarão. 2. Genética da conservação. 3. DNA
mitocondrial. 4. Conservação. 5. Isurus oxyrinchus.
I. Domingues , Rodrigo, Orient. II. Título.

CDD 551.46

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer meu orientador Dr. Rodrigo R. Domingues pela oportunidade de trabalhar ao seu lado, pela orientação, paciência e por sempre exigir o melhor.

A toda equipe do laboratório GenPesC, que me acolheu desde o começo, Prof. Dr. Fernando Mendonça, Dr. Bruno Ferrette e minhas amigas, Me. Ingrid Bunholi e Vitória Oliveira, pela companhia no dia a dia da bancada.

As amigades que fiz em Santos, que tornaram essa caminhada colorida e possível, que me receberam em seus corações e se tornaram minha segunda família.

E um agradecimento infinitamente especial para minha família; ao meu pai Wilian, minha mãe Rosangela, minhas irmãs Laís e Vitória e meu namorado Fernando, vocês foram o verdadeiro pilar dessa fase. Obrigada por todo apoio, incentivo e compreensão. Prometo retomar meu pião nos jogos de tabuleiro.

RESUMO

A classe Chondrichthyes (peixes cartilaginosos), pode ser dividida em duas subclasses: a Holocephali, composta pelas quimeras e a Elasmobranchii, composta por raias e tubarões. O tubarão *Isurus oxyrinchus* é um predador pelágico de grande porte, que pode ser encontrado tanto em regiões costeiras como oceânicas de todo mundo. Esta espécie é amplamente capturada pelas frotas de espinhel que visam a pesca de atuns e espadartes. Este trabalho teve como propósito analisar a estrutura populacional do tubarão *Isurus oxyrinchus* ao longo dos Oceanos Atlântico e Índico, em que foram identificados os níveis de diversidade genética a partir de análises da região controle do DNA mitocondrial (D-loop). Os valores obtidos apresentam alta diversidade haplotípica ($h = 0,8693 \pm 0,0270$) e nucleotídica ($\pi = 0,001417 \pm 0,0835$), respectivamente. A hipótese de panmixia de *Isurus oxyrinchus* ao longo das regiões amostradas foi rejeitada ($\Phi_{ST} = 0,05197$, $p = 0,0238$), revelando estrutura populacional. A análise Φ_{ST} par-a-par após a correção de Holm-Bonferroni revelou uma diferenciação genética matrilinear significativa apenas entre o Oceano Índico (OI) e o Meio Atlântico Equatorial (MAE) ($\Phi_{ST} = 0,2450$). Embora nossos resultados revelem uma alta diversidade genética, o atual nível de exploração dessa espécie requer medidas de conservação a longo-prazo. Portanto, nós recomendamos que os planos de gestão pesqueira e conservação seja feito separadamente, levando em consideração as diferentes populações identificadas neste estudo.

Palavras chave: Tubarão, genética da conservação, DNA mitocondrial, conservação.

ABSTRACT

The class Chondrichthyes (cartilaginous fish), can be divided into two subclasses: Holocephali, composed of chimeras and Elasmobranchii, composed of rays and sharks. The shark *Isurus oxyrinchus* is a body-large oceanic and pelagic predator, which can be found in both coastal and oceanic regions worldwide. This shark species is largely caught by longline fisheries that target tuna and swordfish. The objective of this study was to assess the levels of genetic diversity and population genetic structure of the *Isurus oxyrinchus* in the Atlantic and Indian Oceans based on mitochondrial DNA control region (D-loop). The D-loop sequences presented 24 haplotypes, with overall haplotype and nucleotide diversities of 0,8693 ($\pm 0,0270$) 0,001417 ($\pm 0,0835$), respectively. The hypothesis of panmixia of *I. oxyrinchus* in the Atlantic and Indian Oceans was rejected based on $\Phi_{ST} = 0,05197$ ($p = 0,0238$), revealing Population genetic structure. The Φ_{ST} pairwise after Holm-Bonferroni correction revealed a matrilineal genetic differentiation between Indian Ocean and Middle Equatorial Atlantic ($\Phi_{ST} = 0,2450$). Although our results revealed that *I. oxyrinchus* has high genetic diversity, the current high level of overexploitation of this shark species, requires long-term management efforts. Therefore, we recommend that fishery management and conservation plans be done separately, taking into account at least two different populations identified in this study.

Keywords: sharks, conservation genetics, conservation of mitochondrial DNA.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 OBJETIVOS.....	11
2.1 Objetivo geral.....	11
2.2 Objetivos específicos.....	11
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
3.1 Amostragem e extração do DNA.....	11
3.2 Amplificação e sequenciamento.	12
3.2.2 Padronização da reação e amplificação do gene D-loop	12
3.3 Diversidade genética e estrutura populacional	13
4 RESULTADOS	13
4. 1 Diversidade genética e estrutura populacional	13
5. DISCUSSÃO	16
6. CONCLUSÃO.....	19
REFERÊNCIAS	19

1 INTRODUÇÃO

A classe Chondrichthyes (peixes cartilaginosos), caracterizada principalmente pelo esqueleto cartilagenoso calcificado, corpo coberto por escamas placóides dérmicas (dentículos dermo-espinhais) e órgãos copuladores (claspers) ligados às nadadeiras pélvicas dos machos (Carrier et al., 2004), é dividida em duas subclasses: a Holocephali, composta pelas quimeras e a Elasmobranchii, composta por tubarões e raias. Atualmente, são reconhecidas 49 espécies de quimeras, 509 de tubarões e 630 espécies de raias (Weigmann, 2016). Quando comparados a peixes ósseos, os Chondrichthyes possuem baixa diversidade de espécies, pois compõem uma linhagem evolutiva quase única, já que muitas ordens possuem uma ou duas famílias, que se ramificam em poucos gêneros e espécies (Domingues et al., 2018). Este grupo possui uma história evolutiva de aproximadamente 450 milhões de anos, em que os processos macro evolutivos favoreceram aumento corporal; maturação sexual tardia; longo período gestacional; baixa fecundidade; crescimento lento e longa vida útil, sendo possível classificá-los como espécies k-estrategistas (Daves e Nammack, 1998). Essa singularidade evolutiva, que contempla diversas formas e funções para sucesso evolutivo e resiliência no ambiente (Compagno, 2001), contribuiu para baixa extinção histórica e boa adaptabilidade evolutiva - uma vez que sobreviveram a cinco eventos catastróficos que provocaram extinção em massa nos oceanos (Domingues, et al., 2018).

A espécie *Isurus oxyrinchus* (Rafinesque, 1810), conhecida popularmente no Brasil como tubarão mako ou anequim (Figura 1), é um predador pelágico de grande porte, que pode ser encontrado em águas tropicais e temperadas em todos os oceanos, desde a superfície até 750m de profundidade e por apresentar endotermia, tolera temperaturas entre 17°C a 22°C (Compagno, 2001; Ebert et al., 2013). Esta espécie é principalmente oceânica, mas pode ser encontrada próximo a regiões costeiras em oceanos de todo o mundo (Stevens, 2008). Segundo Compagno (2001), o tubarão mako, assim como as demais espécies da ordem *Lamniformes*, apresenta estratégia reprodutiva vivípara matrotrofica com oofagia e adelfofagia. Sua dieta consiste em peixes ósseos; cefalópodes; outros tubarões; mamíferos marinhos e tartarugas (Stevens, 2008). Apresenta dimorfismo sexual em relação ao seu tamanho corporal: os machos adultos podem medir entre 2,00m a 2,70m e das fêmeas adultas entre 2,75m a 3,60m, com uma expectativa de vida de 29 a 32 anos (Bishop et al., 2006) e período gestacional de 15 a 18 meses, com ciclo reprodutivo de 3 anos (Mollet et al., 2000).



Figura 1. Exemplar de *Isurus oxyrinchus* ¹

O tubarão mako é massivamente capturado pela pesca industrial, principalmente pela pesca de espinhel pelágico que visa a captura de atuns e afins (Compagno, 2001) e é a segunda espécie mais identificada no comércio de barbatanas nos mercados asiáticos (Fields et al., 2018). Muitas destas pescarias são não regulamentadas, não declaradas e até mesmo ilegais, tornando as estatísticas sobre o estoque deficientes, uma vez que muitos dados são subnotificados ou nem chegam a ser notificados. Como consequência, o tubarão mako está na lista vermelha da International Union for Conservation of Nature (IUCN) com o status de “Ameaçada (EN)” (IUCN, 2019) e no Apêndice II da Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES), que especifica que a pesca e o comércio devem ser regulamentados para garantir a sustentabilidade (CITES-CoP18 2019). Apesar da dificuldade em obter dados sobre a quantidade pescada, estimativas feitas no estudo de Worm et al. (2013) indicam que aproximadamente 100 milhões de tubarões morrem anualmente para suprir a demanda por suas nadadeiras em mercados asiáticos, entretanto,

¹ Disponível em: <<https://www.inaturalist.org/observations/47062579>> Acesso em 18 jan. 2021.

embora as informações estatísticas pesqueiras tenham um valor subestimado, a pesca comercial de tubarões vem aumentando acentuadamente no mundo, o que representa a maior ameaça às populações e estimula a exploração dos estoques (Dulvy et al., 2014; Oliver, 2015; Campana et al., 2005). Dados recentes, apontam um decréscimo em mais 70% nas populações de tubarões pelágicos nos últimos 50 anos (Pacoureaux et al., 2021).

O declínio de uma população, independentemente do tamanho ou se é isolada, é alarmante, pois tais populações são mais suscetíveis aos efeitos deletérios da endogamia (que leva à homozigose) e deriva genética (diminuição da heterozigose), acarretando na perda de diversidade genética ao longo das gerações, comprometendo a capacidade da população evoluir e ser capaz de lidar com mudanças ambientais (Allendorf et al., 2013). Tal gargalo populacional causado pela pesca, associado a natural baixa taxa de evolução molecular e as características de história de vida dos tubarões, fazem com que a erosão da diversidade genética comprometa a sobrevivência desse grupo frente às futuras mudanças ambientais causadas pelo homem (Allendorf et al., 2013; Domingues et al., 2018). Frequentemente, os dados de diversidade genética de elasmobrânquios não são utilizados na gestão pesqueira (Domingues et al., 2018). Seu uso é de grande importância e utilidade, uma vez que esses dados poderiam gerar informações como sobre a identificação de populações discretas, diversidade genética da população, sua resiliência, vulnerabilidade da espécie, probabilidade de extinção, entre outros.

Dessa forma, através de avaliações e monitoramento dos dados genéticos com certa periodicidade, é possível avaliar os níveis de diversidade genética e identificar populações discretas ao longo da distribuição da espécie, possibilitando o aprimoramento dos planos de manejo para as espécies, e com isso, esclarecer as estruturas populacionais, delineamento dos estoques e preservar a dinâmica evolutiva (Domingues et al., 2018). Assim, marcadores moleculares são muito utilizados para a obtenção desses dados.

O DNA mitocondrial é uma molécula circular, fita dupla e tem origem materna (uniparental). Possui uma alta taxa evolutiva (alta taxa de substituição de bases), sendo vantajoso para análises genéticas, filogenéticas e populacionais. A região controle ou D-loop é uma região não codificadora, possui uma alta taxa de substituição e sua taxa de evolução chega a ser até cinco vezes maior do que outros genes codificadores de proteínas e oferece dados sobre a estruturação populacional e variabilidade genética (Menck e Van Sluys, 2017). Tendo em vista a importância ecológica, a história evolutiva, a alta mortalidade por ser o

segundo tubarão mais pescado (IUCN, 2019) e a falta de estudos sobre a diversidade genética e estrutura populacional nos oceanos Atlântico e Índico, é imprescindível que análises genéticas sejam feitas, de forma a avaliar os níveis de diversidade genética e estrutura populacional do *Isurus oxyrinchus*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a diversidade genética e identificar diferentes populações de *Isurus oxyrinchus* nos Oceanos Atlântico e Índico a partir de dados de sequência da região controle do DNA mitocondrial (D-loop).

2.2 Objetivos específicos

- Testar a hipótese nula da panmixia na espécie *Isurus oxyrinchus* nos Oceanos Atlântico e Índico, utilizando a região controle do DNA mitocondrial (D-loop).
- Avaliar os níveis de diversidade genética inter e intrapopulacional da espécie da região de controle do DNA mitocondrial (D-loop).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostragem e extração do DNA

Um total de 98 amostras de tecido de *I. oxyrinchus* foram coletadas ao longo do Oceano Índico - OI (n= 30) e do Oceano Atlântico [Meio Atlântico Equatorial - MAE (n= 12), Meio Atlântico Sul - MAS (n= 29), Cabo Verde - CV (n= 12) e Oceano Atlântico próximo à África do Sul - AFF (n= 15)] (Figura 2). Todas as amostras foram coletadas por observadores de bordo da frota industrial de espinhel pelágico portuguesa. Os tecidos foram armazenados em álcool 95% no freezer. A extração de DNA foi realizada pelo método fenol-clorofórmio (Wasko et al., 2003).

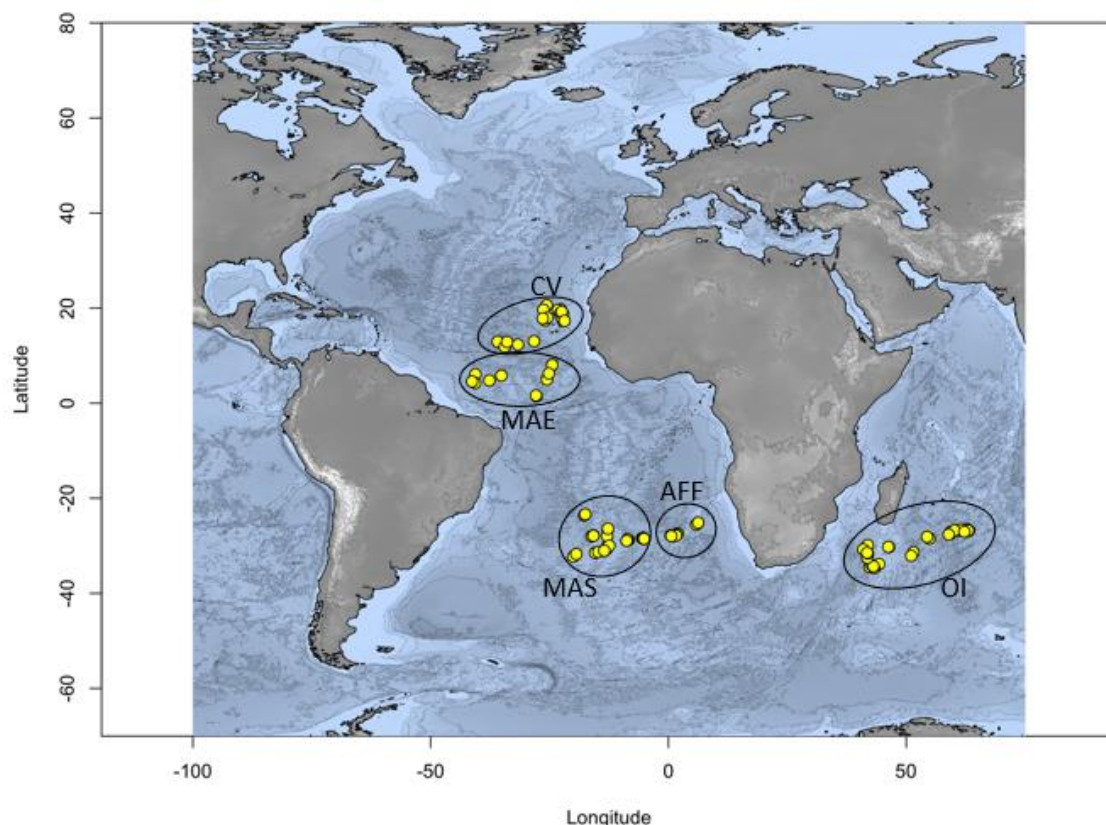


Figura 2. Local e amostragem de tecidos de *Isurus oxyrinchus* nos Oceanos Atlântico e Índico. A cor amarela representa as frotas pesqueiras de Portugal.

3.2 Amplificação e sequenciamento.

3.2.2 Padronização da reação e amplificação do gene D-loop

A amplificação foi feita por reação em cadeia polimerase (PCR), usando os *primers* *Forward* DL-F-T: 5'-CTC CCA AAG CCA AGA TTC TG-3' (Cao et al., 1998) e *Reverse* 12S rRNA-R: 5'-AAG GCT AGG ACC AAA CCT-3' (Keeney et al., 2003). As reações foram feitas em um volume de 20 μ L, compostas por 1 μ L de DNA; 0,7 μ L de $MgCl_2$; 0,5 μ L DNTPs; 0,4 μ L de *primers forward* e *reverse* e 0,1 μ L de Platinum® Taq DNA Polymerase (Thermo Fisher Scientific). O ciclo da PCR consistiu em desnaturação a 96°C por 60 segundos, anelamento a 56°C por 40 segundos e extensão a 72°C por 130 segundos, totalizando 35 ciclos. Os produtos da amplificação foram visualizados em gel de agarose a 1%, imerso em tampão TAE 1X (Tris-Ácido acético-ETDA), com o corante para ácidos nucleicos Blue Green Loading Dye I (LCG Biotecnologia) e colocados sob luz ultravioleta.

O produto de PCR foi purificado utilizando o Kit “ExoSAP-IT” (Prodinol), de acordo com os procedimentos descritos pelo fabricante, sendo posteriormente sequenciados na plataforma ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer. As sequências foram manualmente editadas, usando o programa Geneious (Geneious 2021.0.3 www.geneious.com). O programa Geneious (2021.0.3) também foi usado para visualizar os eletroferogramas das sequências geradas e a edição das mesmas. O alinhamento foi realizado através do algoritmo MUSCLE (3.5), incluso no programa Geneious (2021.0.3).

3.3 Diversidade genética e estrutura populacional

Os parâmetros de diversidade genética, como diversidade haplotípica (h) e nucleotídica (π); composição nucleotídica; número de haplótipos (H) e de sítios polimórficos (S); distribuição de polimorfismo e número de transições e transversões foram estimados através do programa Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier e Lischer 2010).

Para testar a hipótese nula de panmixia de tubarão mako nos oceanos Atlântico e Índico, a estrutura genética das populações foi estimada entre todas as regiões pelo índice de Φ_{ST} (análogo do F_{ST} de Wright), com significância de 10.000 permutações e $\alpha = 0,05$ (Cockerham e Weir, 1993). As probabilidades estimadas foram corrigidas pelo método de correção de Holm-Bonferroni para múltiplos testes (Holm, 1979). A Análise de Variância Molecular – AMOVA (Arlequin 3.5; Excoffier et al., 1992) foi utilizada para obter a variância proporcional distribuída entre os locais de coleta através de uma estrutura hierárquica de diferentes cenários populacionais.

4 RESULTADOS

4.1 Diversidade genética e estrutura populacional

Um total de 590pb da região D-loop foram obtidas de 98 indivíduos e a sequência consenso possui 99,5% de identidade. As sequências finais geraram 24 haplótipos, 20 sítios variáveis e 21 mutações (12 transições, 9 transversões, 0 indel). A composição de nucleotídeos foi: A=29,54%, C=27,96%, G=7,91% e T=34,59%. As diversidades haplotípica (h) e nucleotídica (π) totais foram $h=0,8693 \pm 0,0270$ e $\pi=0,001417 \pm 0,0835$,

respectivamente. A diversidade haplotípica (h) variou entre um mínimo de $0,7810 \pm 0,1016$ (região AFF) e um máximo de $0,8828 \pm 0,0508$ (região OI); a diversidade nucleotídica (π) variou entre um mínimo de $0,001213 \pm 0,0753$ (região OI) e um máximo de $0,001508 \pm 0,0952$ (região CV) - (Tabela 1). Os parâmetros de diversidade genética para os demais locais de coleta são descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros de diversidade genética para tubarões mako dos oceanos Atlântico e Índico (*Isurus oxyrinchus*). n: tamanho amostral; S: número de sítios polimórficos; H: número de haplótipos; h: diversidade haplotípica e desvio padrão e π : diversidade nucleotídica e desvio padrão. Local de coleta: Meio Atlântico Equatorial (MAE); Cabo Verde (CV); Meio Atlântico Sul (MAS); Atlântico próximo à África do Sul (AFF) e Oceano Índico (OI).

Local de coleta	n	S	H	h	π
MAE	12	9	7	$0,8788 \pm 0,0751$	$0,001492 \pm 0,0944$
CV	12	10	6	$0,8636 \pm 0,0716$	$0,001508 \pm 0,0952$
MAS	29	14	14	$0,8793 \pm 0,0453$	$0,001361 \pm 0,0828$
AFF	15	10	7	$0,7810 \pm 0,1016$	$0,001438 \pm 0,0898$
OI	30	14	16	$0,8828 \pm 0,0508$	$0,001213 \pm 0,0753$
TOTAL	98	20	24	$0,8693 \pm 0,0270$	$0,001417 \pm 0,0835$

Através da distribuição geográfica dos haplótipos, indicada na tabela 2, é possível observar que os haplótipos 1, 5 e 11 foram os mais comuns, sendo este último o mais abundante nas regiões AFF, MAS e OI. Um total de 6 haplótipos eram únicos na região OI e outros 3 haplótipos na região MAS.

Tabela 2. Distribuição de haplótipos da região controle do DNA mitocondrial por localidade (*Isurus oxyrinchus*). Local de coleta: Meio Atlântico Equatorial (MAE); Cabo Verde (CV); Meio Atlântico Sul (MAS); Atlântico próximo à África do Sul (AFF) e Oceano Índico (OI).

	OI (30)	AFF (15)	MAE (12)	MAS (29)	CV (12)
Hap_1	2	1	2	1	2
Hap_2	1	2	0	0	0
Hap_3	1	0	0	4	0
Hap_4	1	0	4	4	0
Hap_5	1	2	1	1	1
Hap_6	0	0	1	0	0
Hap_7	0	0	1	0	0
Hap_8	0	0	0	0	1
Hap_9	0	1	0	1	2
Hap_10	1	1	0	0	0
Hap_11	10	7	2	9	4
Hap_12	2	0	0	1	0
Hap_13	1	0	0	0	0
Hap_14	2	0	0	0	0
Hap_15	3	0	0	1	2
Hap_16	1	0	0	0	0
Hap_17	0	1	0	2	0
Hap_18	0	0	0	1	0
Hap_19	1	0	0	0	0
Hap_20	1	0	0	0	0
Hap_21	1	0	1	1	0
Hap_22	0	0	0	1	0
Hap_23	0	0	0	1	0
Hap_24	1	0	0	1	0

A hipótese de panmixia de *Isurus oxyrinchus* ao longo das regiões amostradas foi rejeitada baseado no resultado global estatisticamente significativo $\Phi_{ST} = 0,05197$ ($p = 0,0238$), revelando uma estruturação genética moderada e significativa da população. A

análise Φ_{ST} par-a-par após a correção de Holm-Bonferroni revelou uma diferenciação genética matrilinear significativa apenas entre o Oceano Índico (OI) e o Meio Atlântico Equatorial (MAE) ($\Phi_{ST} = 0,2450$), enquanto as outras comparações par-a-par não foram significativas (Tabela 3). A AMOVA hierárquica com diferentes cenários de 2 e 3 combinações de locais de coleta testados, não revelaram estrutura populacional (Tabela 4).

Tabela 3. Valores de Pairwise Φ_{st} abaixo da diagonal e valores P (corrigidos por Holm-Bonferroni) acima da diagonal, em negrito os valores significativos, do tubarão mako (*Isurus oxyrinchus*).

Local de coleta	OI	AF	MAE	MAS	CV
OI	-	0,9576	0,0109	1,000	0,6071
AF	0,0200	-	0,5386	1,000	1,000
MAE	0,2450	0,0831	-	0,1034	0,9576
MAS	0,0014	-0,0276	0,1284	-	1,000
CV	0,0626	-0,4964	0,0496	0,0014	-

Tabela 4. Análise de variância molecular (AMOVA) da região controle do DNA mitocondrial do tubarão mako (*Isurus oxyrinchus*). Locais de coleta: Meio Atlântico Equatorial (MAE); Cabo Verde (CV); Meio Atlântico Sul (MAS); Atlântico próximo à África do Sul (AFF) e Oceano Índico (OI).

	Hipóteses de estruturação	Φ_{st}	P	% de variação
2 populações				
1	CV + AF + MAE + MAS \times OI	0,0277	0,39960	2,77
2	CV + MAE \times MAS + AF	0,0427	0,32495	4,27
3 populações				
3	OI \times CV + MAE \times MAS + AF	0,0522	0,19486	5,22
4	OI + AF \times CV \times MAE + MAS	-0,0299	0,73407	-2,99

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesse trabalho fornecem dados sobre os parâmetros de diversidade genética e estrutura populacional do tubarão mako nos oceanos Atlântico e Índico. Em suma, o tubarão anequim apresenta alta diversidade genética na região controle do

DNA mitocondrial e estruturação populacional significativa entre o Meio Atlântico Equatorial e o Oceano Índico.

Tabela 5. Comparação das diversidades haplotípica e nucleotídica de *I. oxyrinchus* e outras espécies de elasmobrânquios.

Autor	Espécie	h	π
Corrigan et al., 2018	<i>Isurus oxyrinchus</i>	0,89	0,004
Taguchi, 2011	<i>Isurus oxyrinchus</i>	0,92	0,007
Heist, 1996	<i>Isurus oxyrinchus</i>	0,76	0,003
Alves, 2013	<i>Isurus oxyrinchus</i>	0,79	0,004
Oñate-González, 2015	<i>Carcharodon carcharias</i>	0,77	0,351
Ferrette, 2015	<i>Pseudocarcharias kamoharai</i>	0,63	0,002
Corrigan et al., 2016	<i>Orectolobus harlei</i>	0,56	0,812
Corrigan et al., 2016	<i>Orectolobus maculatus</i>	0,39	0,089
Corrigan et al., 2016	<i>Orectolobus ornatus</i>	0,22	0,740

A diversidade haplotípica de todas as localidades amostradas foi próxima ou superior a 0,8, enquanto a diversidade nucleotídica foi próximo de 0,001. Este valor é próximo ao encontrado em outros estudos genéticos populacionais do tubarão mako ($h=0,755$ e $\pi=0,003$ Heist et al., 1996; $h=0,92$ e $\pi=0,007$ Taguchi et al., 2011; $h=0,894$ e $\pi=0,004$ Corrigan et al., 2018; $h=0,791$ e $\pi=0,004$ Alves 2013) e para a espécie *Carcharodon carcharias* ($h=0,77$, Oñate-González et al., 2015). Por outro lado, esta diversidade haplotípica (h) foi maior quando comparada com elasmobrânquios que possuem diferentes hábitos e distribuições, como os descritos por Corrigan et al., (2016) para três espécies da família *Orectolobus spp.*: *Orectolobus harlei* ($h=0,5622$), *Orectolobus maculatus* ($h=0,3910$) e *Orectolobus ornatus* ($h=0,2184$) e para o tubarão crocodilo, *Pseudocarcharias kamoharai* ($h=0,627$, Ferrette et al., 2015).

Em geral, tubarões possuem alta diversidade haplotípica e baixa diversidade nucleotídica e esse padrão de diversidade genética é visto em espécies que sofreram grandes pressões ambientais e tiveram uma diminuição no tamanho efetivo populacional, seguido de uma rápida expansão – efeito gargalo (Grant e Bowen, 1998). De fato, algumas características biológicas como história evolutiva e tamanho efetivo populacional podem tornar as espécies

mais suscetíveis aos efeitos da sobrepesca, o que resulta em uma redução da variabilidade genética e perda de populações geneticamente únicas (Pinsky e Palumbi, 2014). Apesar da alta diversidade genética encontrada neste trabalho, o grau de sobrepesca dessa espécie é alarmante e necessita de medidas de conservação a longo-prazo, uma vez que as taxas reprodutivas do *I. oxyrinchus* são baixas, sendo possível comprometer as capacidades evolutivas de uma população e suas chances de persistência, pois elasmobrânquios no geral apresentam uma recuperação lenta diante de uma exploração intensa (Pacoureaux et al., 2021).

Dos vinte e quatro haplótipos compartilhados, apenas três foram encontrados em todas as localidades, sendo o Oceano Índico com mais haplótipos únicos (n= 6), seguido pelo Meio Atlântico Equatorial (n= 3) e Meio Atlântico Sul (n= 2). Comparando o compartilhamento de haplótipos nas regiões amostradas, um maior compartilhamento foi visto entre as regiões do Oceano Índico (OI), Meio Atlântico Sul (MAS) e Meio Atlântico Equatorial (MAE), enquanto nas regiões do Atlântico próximo à África do Sul (AFF) e Cabo Verde (CV) foi visto um menor compartilhamento de haplótipos, o que sugere que existe um fluxo gênico matrilinear maior entre os oceanos Atlântico e Índico e mais reduzido, porém não restritivo, no oceano Atlântico. Compartilhamento de haplótipos entre populações do Índico, Indo-Pacífico e Atlântico foram também encontrados para outras espécies de tubarões pelágicos e peixes ósseos (Graves et al., 1998; Domingues et al., 2017).

A AMOVA e a análise Φ_{st} par-a-par revelaram uma diferenciação genética matrilinear significativa entre os Oceanos Atlântico e Índico, enquanto no oceano Atlântico é uma população panmítica. A AMOVA testou a heterogeneidade genética nos níveis interpopulacional e intrapopulacional, entretanto, nas combinações de cenários não foi observado qualquer agrupamento que pudesse caracterizar diferenciação populacional, o que sugere que as amostras de *Isurus oxyrinchus* constituem uma única população no Oceano Atlântico abaixo da linha do Equador. Resultados semelhantes foram encontrados para a espécie congênere (*Isurus paucus*) no Oceano Atlântico (Magalhães, 2018). No entanto, estudos pretéritos evidenciaram estruturação genética populacional matrilinear entre as populações do Atlântico norte e sul (Corrigan et al., 2018; Heist et al., 1996). Portanto, o aumento de amostras do Atlântico Norte poderia corroborar os estudos pretéritos e reforçar a hipótese de uma estruturação populacional de bacias oceânicas para o tubarão mako.

A ausência de trabalhos sobre estrutura genética de *Isurus oxyrinchus* nos oceanos Atlântico e Índico dificulta uma análise comparativa, entretanto, Taguchi et al., (2011), sugere

que existe uma estruturação genética distinta entre os grupos do Oceano Atlântico Norte e o Oceano Pacífico, com uma “quebra” genética no Oceano Índico. A área de divergência entre as populações do Atlântico Equatorial e do Oceano Índico pode ser dada pela Corrente de Benguela, que fornece uma ressurgência intensa de águas frias e ricas em nutrientes e pode ser classificada como uma barreira filogeográfica semipermeável, afetando a dispersão e o movimento dos indivíduos adultos (Ovenden, 2013). A barreira de Benguela já foi identificada como uma barreira semipermeável para outros tubarões e grandes peixes pelágicos, como os atuns e agulhões (Graves et al., 1998; Martinez et al., 2006; Domingues et al., 2018).

6. CONCLUSÃO

Diante dos atuais níveis de sobre-exploração das populações de tubarão mako, e dos atuais baixos níveis de diversidade genética encontrados e populações discretas, nossos achados fornecem subsídios para a construção de futuros planos de manejo dessa espécie no Oceanos Atlântico e Índico.

Portanto, os esforços para conservação e o manejo pesqueiro devem levar em consideração os níveis de diversidade genética e estrutura populacional, os quais podem garantir uma conservação a longo prazo e preservar características únicas de uma população (Hoban et al., 2020).

REFERÊNCIAS

- ALLENDORF, F. W.; LUIKART, G.; AITKEN, S. N. Conservation and the genetics of populations Blackwell Pub., Malden, MA. 2013.
- ALVES, Ronald Ribeiro. Filogeografia do tubarão mako *Isurus oxyrinchus* utilizando marcadores moleculares do DNA mitocondrial. 2013.
- BISHOP, S. D. H. et al. Age, growth, maturity, longevity and natural mortality of the shortfin mako shark (*Isurus oxyrinchus*) in New Zealand waters. **Marine and Freshwater Research**, v. 57, n. 2, p. 143-154, 2006.

CAMARGO, Sâmia M. et al. Structure and genetic variability of the oceanic whitetip shark, *Carcharhinus longimanus*, determined using mitochondrial DNA. **PloS one**, v. 11, n. 5, p. e0155623, 2016.

CAMPANA, Steven E.; MARKS, Linda; JOYCE, Warren. The biology and fishery of shortfin mako sharks (*Isurus oxyrinchus*) in Atlantic Canadian waters. **Fisheries Research**, v. 73, n. 3, p. 341-352, 2005.

CAO, Ying et al. The complete mitochondrial DNA sequence of the shark *Mustelus manazo*: evaluating rooting contradictions to living bony vertebrates. **Molecular biology and evolution**, v. 15, n. 12, p. 1637-1646, 1998.

CARRIER, Jeffrey C.; PRATT, H. L.; CASTRO, José I. Reproductive biology of elasmobranchs. **Biology of sharks and their relatives**, p. 269-286, 2004.

CITES-CoP18 (2019) Eighteenth meeting of the conference of the parties of the convention on international trade in endangered species of Wild Fauna and Flora.

COCKERHAM, C. Clark; WEIR, B. S. Estimation of gene flow from F-statistics. **Evolution**, v. 47, n. 3, p. 855-863, 1993.

COMPAGNO, Leonard JV. **Sharks of the world: an annotated and illustrated catalogue of shark species known to date**. Food & Agriculture Org., 2001.

CORRIGAN, Shannon et al. A multilocus comparative study of dispersal in three codistributed demersal sharks from eastern Australia. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 73, n. 3, p. 406-415, 2016.

CORRIGAN, Shannon et al. Population connectivity of the highly migratory shortfin mako (*Isurus oxyrinchus* Rafinesque 1810) and implications for management in the Southern Hemisphere. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 6, p. 187, 2018.

DA SILVA FERRETTE, Bruno Lopes et al. High connectivity of the crocodile shark between the Atlantic and southwest Indian Oceans: Highlights for conservation. **Plos One**, v. 10, n. 2, p. e0117549, 2015.

DAVES, Nancy K.; NAMMACK, Marta F. US and International mechanisms for protecting and managing shark resources. **Fisheries Research**, v. 39, n. 2, p. 223-228, 1998.

DOMINGUES, Rodrigo R. et al. Effects of the Pleistocene on the mitochondrial population genetic structure and demographic history of the silky shark (*Carcharhinus falciformis*) in the western Atlantic Ocean. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 28, n. 1, p. 213-227, 2017.

DOMINGUES, Rodrigo Rodrigues; HILSDORF, Alexandre Wagner Silva; GADIG, Otto Bismarck Fazzano. The importance of considering genetic diversity in shark and ray conservation policies. **Conservation Genetics**, v. 19, n. 3, p. 501-525, 2018.

DULVY, Nicholas K. et al. Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. **elife**, v. 3, p. e00590, 2014.

EXCOFFIER, Laurent; LISCHER, Heidi EL. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular ecology resources**, v. 10, n. 3, p. 564-567, 2010.

EXCOFFIER, Laurent; SMOUSE, Peter E.; QUATTRO, Joseph M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, n. 2, p. 479-491, 1992.

FAO (2019) Fisheries and Aquaculture Department. Capture fisheries. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome.

FIELDS, Andrew T. et al. Species composition of the international shark fin trade assessed through a retail-market survey in Hong Kong. **Conservation Biology**, v. 32, n. 2, p. 376-389, 2018.

GRANT, W. A. S.; BOWEN, Brian W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. **Journal of heredity**, v. 89, n. 5, p. 415-426, 1998.

GRAVES, J. E. Molecular insights into the population structures of cosmopolitan marine fishes. **Journal of Heredity**, v. 89, n. 5, p. 427-437, 1998.

HEIST, Edward J.; MUSICK, John A.; GRAVES, John E. Genetic population structure of the shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*) inferred from restriction fragment length polymorphism analysis of mitochondrial DNA. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 53, n. 3, p. 583-588, 1996.

HOBAN, Sean et al. Genetic diversity targets and indicators in the CBD post-2020 Global Biodiversity Framework must be improved. **Biological Conservation**, v. 248, p. 108654, 2020.

HOLM, Sture. A simple sequentially rejective multiple test procedure. **Scandinavian journal of statistics**, p. 65-70, 1979.

JAWAD, Laith A. SHARKS OF THE WORLD: A FULLY ILLUSTRATED GUIDE-Edited by DA Ebert, S. Fowler & L. Compagno. 2013.

KEENEY, D. B. et al. Genetic heterogeneity among blacktip shark, *Carcharhinus limbatus*, continental nurseries along the US Atlantic and Gulf of Mexico. **Marine Biology**, v. 143, n. 6, p. 1039-1046, 2003.

MAGALHÃES, Carolina de Oliveira. Análise da estrutura populacional e diversidade genética do tubarão mako (*Isurus paucus*) no Oceano Atlântico. 2018.

- MARTÍNEZ, Pilar et al. Genetic diversity and historical demography of Atlantic bigeye tuna (*Thunnus obesus*). **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 39, n. 2, p. 404-416, 2006.
- MENCK, Carlos F. M; VAN SLUYS, Marie-Anne G. **Menck, Carlos F. M, Genética molecular básica: dos genes aos genomas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 528 p.
- MOLLET, H. F. et al. Reproductive biology of the female shortfin mako, *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810, with comments on the embryonic development of lamnoids. **Fishery Bulletin**, n. 2, 2000.
- O'LEARY, Shannon J. et al. Genetic diversity of white sharks, *Carcharodon carcharias*, in the Northwest Atlantic and southern Africa. **Journal of Heredity**, v. 106, n. 3, p. 258-265, 2015.
- OLIVER, Shelby et al. Global patterns in the bycatch of sharks and rays. **Marine Policy**, v. 54, p. 86-97, 2015.
- OÑATE-GONZÁLEZ, Erick C. et al. Mitochondrial genetic structure and matrilineal origin of white sharks, *Carcharodon carcharias*, in the Northeastern Pacific: implications for their conservation. **Journal of Heredity**, v. 106, n. 4, p. 347-354, 2015.
- OVENDEN, Jennifer R. Crinkles in connectivity: combining genetics and other types of biological data to estimate movement and interbreeding between populations. **Marine and Freshwater Research**, v. 64, n. 3, p. 201-207, 2013.
- PACOUREAU, Nathan et al. Half a century of global decline in oceanic sharks and rays. **Nature**, v. 589, n. 7843, p. 567-571, 2021.
- PINSKY, Malin L.; PALUMBI, Stephen R. Meta-analysis reveals lower genetic diversity in overfished populations. **Molecular ecology**, v. 23, n. 1, p. 29-39, 2014.
- RIGBY, C.L. et al., 2019. *Isurus oxyrinchus*. The IUCN Red List of Threatened Species (2019).
- RUBINAS, Mark. Using Knowledge of Shark Biology and Behavior to Inform Management and Conservation Efforts for the Globally Distributed and Fishery Exploited Shortfin Mako (*Isurus oxyrinchus*). 2017.
- STEVENS, John D. The biology and ecology of the shortfin mako shark, *Isurus oxyrinchus*. **Sharks of the open ocean: biology, fisheries and conservation**, p. 87-94, 2008.
- TAGUCHI, Mioko; KITAMURA, Toru; YOKAWA, Kotaro. Genetic population structure of shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*) inferred from mitochondrial DNA on inter-oceanic scale. **National Research Institute of Far Seas Fisheries, Japan**, 2011.
- TECHERA, Erika J.; KLEIN, Natalie. Fragmented governance: reconciling legal strategies for shark conservation and management. **Marine Policy**, v. 35, n. 1, p. 73-78, 2011.

VIGNAUD, Thomas M. et al. Genetic structure of populations of whale sharks among ocean basins and evidence for their historic rise and recent decline. **Molecular ecology**, v. 23, n. 10, p. 2590-2601, 2014.

WASKO, Adriane P. et al. Non-destructive genetic sampling in fish. An improved method for DNA extraction from fish fins and scales. **Hereditas**, v. 138, n. 3, p. 161-165, 2003.

WEIGMANN, S. Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical diversity. **Journal of Fish Biology**, v. 88, n. 3, p. 837-1037, 2016.

WORM, Boris et al. Global catches, exploitation rates, and rebuilding options for sharks. **Marine Policy**, v. 40, p. 194-204, 2013.